

人参三醇总甙对辐射损伤大鼠生殖内分泌轴功能的保护作用

龚守良, 李新民, 吕 喆, 刘树铮 (白求恩医科大学放射生物教研室, 长春130021, 中国)

Protective effect of panaxatriols on function of reproductive endocrine axis in radiation-injured rats

GONG Shou-Liang, LI Xin-Min, Lü Zhe, LIU Shu-Zheng (Department of Radiation Biology, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021, China)

ABSTRACT After whole body irradiation with X-ray 5 Gy (radiation condition: 0.31 Gy·min⁻¹, 200 kV, 10 mA, 0.5 mm Cu and 1.0 mm Al), the ♂ rats were given ip panaxatriols 5 mg·d⁻¹ 24 h before and after irradiation for 14 d. The results showed that hypothalamic leu-enkephalin (165±12 vs 131±14 pg·mg⁻¹), pituitary β-endorphin (2.3±0.5 vs 1.6±0.3 ng·mg⁻¹) contents, and serum testosterone (1.66±0.15 vs 0.82±0.23 ng·ml⁻¹) level were decreased, while serum FSH (1.34±0.10 vs 1.99±0.10 ng·ml⁻¹) level increased in irradiation group vs normal control. These indices approached to control levels in irradiation + panaxatriols group. These suggest that panaxatriols have protective effects on reproductive endocrine axis and promote their recovering course from the radiation injuries.

KEY WORDS experimental radiation injuries; ginseng; saponins; panaxatriols; LH; FSH; prolactin; testosterone; endorphins; enkephalins

摘要 采用 X 射线 5 Gy 全身照射 ♂ 大鼠, 观察人参三醇总甙对生殖内分泌轴功能的影响。大鼠于照射前 24 h 及照射后 ip 三醇总甙 5 mg·d⁻¹ × 14 d。结果表明, 人参三醇总甙可减轻下丘脑 L-Enk、垂体 β-EP 的含量和血清睾酮水平的降低及血清 FSH 水平的增高。提示人参三醇总甙能保护生殖内分泌轴功能, 并促进其辐射损伤的修复。

关键词 实验性辐射损伤; 人参; 皂甙; 人参三醇总甙; 促黄体素; 促滤泡素; 催乳素; 睾酮; 内啡肽类; 脑啡肽类

Received 1990-08-14

Accepted 1992-10-26

人参具有显著的辐射防护作用^(1,2)。离体实验表明, 人参三醇总甙(panaxatriols)的辐射防护作用大于二醇总甙(Hahn DR. Pharmacobiological action of ginsenoside Rb, Rg and Re. Proceedings of the 2nd International Ginseng Symposium; 1978 Sep 135-140, Seoul)。但是, 有关人参三醇总甙对生殖内分泌轴的辐射防护作用尚未见文献报道。为此, 本实验选用人参三醇为甙元的甙类化合物(包括人参皂甙 Re、Rf、Rg₁、Rg₂及 20-glc-Rf 等)人参三醇总甙为材料, 采用 X 射线 5 Gy 全身照射 ♂ 大鼠, 观察人参三醇总甙对其生殖内分泌轴功能的影响, 为人参在生殖内分泌的辐射防护作用机制和实际应用提供实验依据。

MATERIALS AND METHODS

大鼠 成年健康 Wistar ♂ 大鼠, 体重 0.25±0.03 kg⁻¹, 由本校实验动物部提供。大鼠随机分对照组(control)、照射组(Rad)、人参组(Pan)和照射加人参组(Rad+Pan), 每组 8 只鼠。大鼠 ip 用人参三醇总甙由本校有机化学教研室提供, M_r = 4764, 纯度 95.6%, 淡黄色粉末, 易溶于酒精, 醋酐-浓硫酸试验阳性⁽³⁾。大鼠于照射前 24 h 及照射后每天 ip 人参三醇总甙 5 mg (0.2 ml), 对照组及照射组 ip 同容量的生理盐水。照射 14 d 后断头处死大鼠, 立即取脑和垂体, 并分离血清。

X 射线照射 将大鼠置于同心圆木制盒内, 用 Philips 深部 X 线机照射, 管电压 200 kV, 电流 10 mA, 滤片铜 0.5 mm、铝 1.0 mm, 线源距大鼠 50 cm, 剂量率 0.31 Gy·min⁻¹, 全身照射总剂量为 5 Gy。

促性腺激素放射免疫测定 3 种促性腺激素(促黄体素 luteinizing hormone, LH、促滤泡素 follicle stimulating hormone, FSH 和促乳素 prolactin, PRL)药盒均含有标准品、标记用纯品和兔抗鼠血清, 由美国 NI-ADDK 公司惠赠。二抗(羊抗兔 IgG 血清)本室制备。

¹²⁵I 为中国原子能研究院产品。用氟胺 T 法自行标记纯品⁽⁴⁾，以 Sephadex G 50 (瑞典 Pharmacia) 凝胶过滤标记物，收集结合峰，标记物比活性为 447.7 - 525.4 MBq·g⁻¹。采用双抗体放免法测定 3 种血清促性腺激素，其标准曲线经 logit 转化，LH, FSH 和 PRL 相关系数 r 分别为 0.976, 0.953 和 0.948。

睾酮 (testosterone, TS) 放射免疫测定 ¹²⁵I-testosterone 药盒由上海内分泌研究所供应，按药盒说明书操作。用 CH₂Cl₂ 提取血清 TS，待提取样品干燥后用活性炭吸附放免法测定。其标准曲线经 logit 转化，线性良好，相关系数 r 为 0.957。

阿片肽放射免疫测定 提取 β-内啡肽 (β-endorphin, β-EP)、甲硫氨酸脑啡肽 (met-enkephalin, M-Enk) 和亮氨酸脑啡肽 (leu-enkephalin, L-Enk) 方法：大鼠断头后立即取脑及垂体，放入生理盐水中煮沸 3 min，分离下丘脑，摘取垂体，称重，然后用 0.1 mol·L⁻¹ HCl 匀浆，并经 1 mol·L⁻¹ NaOH 调至 pH 7.6 后，加 20% 容量 PELH 溶液 (100 ml 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液，pH 7.6，含 EDTA 0.11 g，溶菌酶 1.0 mg 及 chlorhexidine 200 mg)。离心 (1250×g, 30 min)，取上清液贮于 -20℃ 待测。β-EP 标准为 Sigma 产品，其抗血清为 DAKO 产品。采用氟胺 T 法⁽⁵⁾进行 ¹²⁵I 标记。 ¹²⁵I-met-enkephalin 和 ¹²⁵I-leu-enkephalin 药盒为上海高血压研究所产品。采用双抗体放免法⁽⁶⁾测定 3 种阿片肽，其标准曲线经 logit 转化，线性良好，β-EP, M-Enk 和 L-Enk 相关系数 r 分别为

0.968, 0.983 和 0.954。

TS 样品用美国 Packard 公司产 Tri-Carb 460 CD 自动液体闪烁计数器测定，其他样品皆用美国 Packard 公司产 A 5412 型 γ 多探头自动计数器测定，所有样品均取双份测定，试剂为 AR，组间数据用 t 检验处理。

RESULTS

在人参组中，血清 FSH 水平无明显改变；而在照射组中，FSH 显著增高 (P < 0.01)；但在照射加人参组，这种变化消失，与对照组比较无显著差异 (P > 0.05)。在人参组中，血清 PRL 水平显著增高 (P < 0.01)；但在照射组中，PRL 水平未见显著改变；而在照射加人参组，也未出现人参促进 PRL 分泌的作用。在照射组中，血清 TS 水平显著降低 (P < 0.01)；而在人参组中未见明显变化；在照射加人参组中，TS 接近对照组水平 (Tab 1)。

下丘脑和垂体 β-EP 含量在照射组中均降低，但垂体 β-EP 降低明显 (P < 0.05)；在人参组中变化不明显；在照射加人参组中接近对照组水平，不出现照射组降低的趋势。下丘脑 M-Enk 含量，照射组低于对照组 16.4%，但无显著性差异，在人参组中无明显变化，在照射加人参组中亦未出现照射组的降低趋势，几乎

Tab 1. Effects of panaxatriols (5 mg·d⁻¹ before 1 d × 14 d) on serum LH, FSH, prolactin (PRL) and testosterone (TS) levels (ng·ml⁻¹) and leu-enkephalin (L-Enk, pg·mg⁻¹), met-enkephalin (M-Enk) and β-endorphin (β-EP) contents (ng·mg⁻¹) after whole body radiation with X-ray 5 Gy in ♂ rats. $\bar{x} \pm s$. *P > 0.05, **P < 0.05, ***P < 0.01 vs normal control.

		Normal control	Radiation	Panaxatriols	Radiation + panaxatriols
Serum (n=8)	LH	0.37 ± 0.04	0.35 ± 0.06*	0.32 ± 0.04*	0.40 ± 0.17*
	FSH	1.34 ± 0.10	1.99 ± 0.10***	1.56 ± 0.10*	1.40 ± 0.07*
	PRL	10.4 ± 1.7	11.5 ± 2.0*	16.9 ± 1.0***	10.3 ± 1.0*
	TS	1.66 ± 0.15	0.82 ± 0.23***	1.70 ± 0.17*	1.42 ± 0.40*
Hypothalamus (n=8)	β-EP	2.1 ± 0.5	1.7 ± 0.4*	1.9 ± 0.4*	2.0 ± 0.4*
	M-Enk	1.70 ± 0.30	1.42 ± 0.24*	1.76 ± 0.17*	1.72 ± 0.18*
	L-Enk	169 ± 12	131 ± 14***	167 ± 19*	163 ± 17*
Pituitary (n=7)	β-EP	2.3 ± 0.5	1.6 ± 0.3**	2.3 ± 0.5*	2.0 ± 0.3*
	M-Enk	0.84 ± 0.09	0.81 ± 0.10*	0.85 ± 0.11*	0.82 ± 0.11*
	L-Enk	112 ± 19	98 ± 11*	108 ± 14*	109 ± 11*

与对照组水平相一致; 垂体 M-Enk 含量在各组间均无明显变化. 下丘脑 L-Enk 含量在照射组中明显降低($P < 0.01$), 而垂体 L-Enk 稍有降低($P > 0.05$); 在人参组中, 下丘脑和垂体 L-Enk 含量变化都不明显; 在照射加入人参组, 下丘脑和垂体 L-Enk 含量未出现照射组的降低趋势, 而与对照组水平一致(Tab 1).

DISCUSSION

本实验结果表明, 血清 PRL 水平在人参组中明显增高, 此结果与大浦彦吉报告的人参皂甙促进离体培养的腺垂体细胞分泌 PRL 的结果(大浦彦吉. 薬用人参. その研究と進歩. 東京: 共立出版社, 1981 : 80)一致. 提示, 人参皂甙可刺激整体和离体腺垂体细胞分泌 PRL. 但是, 在人参组中血清 LH, FSH 和 TS 水平变化不明显; 而在离体的大鼠垂体细胞, 人参皂甙具有促进 LH 和 FSH 的分泌⁽²⁾, 说明人参皂甙对腺垂体促性腺激素的分泌, 体内和体外的作用机制不一致. 另外, 在人参组中, 无论是下丘脑还是垂体组织, 3种阿片肽含量变化皆不显著, 说明在体内人参皂甙对脑内阿片肽不起作用. 综上结果提示, 在正常生理情况下, 除 PRL 外, 人参三醇总甙对雄性大鼠生殖内分泌轴作用不十分明显.

在照射组中, 血清 TS 水平明显降低, 而血清 FSH 水平明显增高. 说明大剂量 X 射线照射既损伤了睾丸间质细胞(Leydig 细胞)内分泌功能, 也损伤了曲细精管生精上皮支持细胞(Sertoli 细胞)内分泌功能, 使 TS 和抑制素(由支持细胞分泌的一种抑制促性腺激素释放的蛋白激素, inhibin)分泌减少, 导致垂体 FSH 分泌的增加. 已有证实, 脑内阿片肽可作用于下丘脑分泌神经元, 抑制 GnRH 的释放⁽⁷⁾, 进而抑制垂体促性腺激素的释放. 在照射组中, 下丘脑和垂体3种阿片肽含量都有不同程度的降低, 可促进垂体 FSH 的分泌. 由此可见, 大

剂量 X 射线照射后, 雄性大鼠生殖内分泌轴功能受到严重损伤, 其反馈调节失常, 睾丸内分泌激素分泌降低, 下丘脑释放阿片肽类物质减少, 使垂体分泌 FSH 增强.

然而, 在照射加入人参组中, 血清 FSH 和 TS 水平及下丘脑和垂体3种阿片肽含量均接近对照组水平. 显然, 在照射加入人参组, 大鼠机体已处于正常生理水平, 生殖内分泌轴功能活动正常, 其反馈调节保持在正常状态. 提示, 人参皂甙可减轻受照射大鼠下丘脑 L-Enk、垂体 β -EP 和血清 TS 水平的降低, 以及血清 FSH 水平的增高, 具有保护生殖内分泌轴功能的作用, 并促进其辐射损伤的恢复.

ACKNOWLEDGMENTS 美国 NIADDK 公司惠赠3种促性腺激素药盒; 本校有机化学教研室惠赠人参三醇总甙.

REFERENCES

- 1 Li XY, Lu Z, Li XM, Gong SL. Study on the radioprotective activity of panaxatriol through histological testicular changes in rats. *J Norman Bethune Univ Med Sci* 1991; 17 : 430-1.
- 2 Li XM, Liu SZ, Ma XY, Xu JD. A study of the effect of ginsenosides on the secretion of gonadotropins. *J Norman Bethune Univ Med Sci* 1988; 14 : 293-5.
- 3 Shao CJ, Xu JD, Jiang XK, Cheng GR. Chemical studies on the tetracyclic triterpenic saponins in flowers-buds of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Chem J Chin Univ* 1984; 5 : 674-7.
- 4 Dong YL, Liu SZ, Zhou FQ, Fang YX. Study on ¹²⁵I-labeling FSH with chloramine-T. *Chin J Nucl Med* 1984; 4 : 166-7.
- 5 Tang J, Chen QS, Zhou DF, Xie CW, Wang YX, Han JS. Radioimmunoassay for β -endorphin. *J Beijing Med Coll* 1981; 13 : 249-53.
- 6 Lu YS, Wu JB, Yi CC, Wan FS, Zou G. Radioimmunoassay for enkephalins. *Acta Biochim Biophys Sin* 1980; 12 : 115-25.
- 7 Bicknell EJ. Endogenous opioid peptides and hypothalamic neuroendocrine neurones. *J Endocrinol* 1985; 107 : 437-46.